1884

[illegible]



LES ALTÉRATIONS DES GLOBULES ROUGES

DANS L'INFECTION PAR MALARIA ET LA GENÈSE DE LA MÉLANÉMIE

MÉMOIRE

de M. le Prof. E. MARCHIAFAVA et M. le Docteur A. CELLI (1)

Laboratoire d'anatomie pathologique de l'Université de Rome

De toutes les altérations que l'infection par malaria détermine dans l' organisme humain, la plus caractéristique est celle qui se produit dans le sang et qu'on nomme *Mélanémie* (2). Cette dyscrasie consiste dans la présence dans le sang d'un pigment jaune, brunâtre ou noir, rarement libre, et généralement logé dans les éléments cellulaires. Il est facile de reconnaître l'existence du pigment dans le sang, en l'examinant en couche très légère; et, dans les sujets morts de fièvres pernicieuses, on trouve le pigment généralement renfermé dans les éléments cellulaires, dans les vaisseaux sanguins de la rate, de la moelle osseuse, du foie, du cerveau, des reins, des poumons, etc. Quand la mélanémie a cessé, il reste la *mélanose* de la rate, de la moelle osseuse, du foie, c'est-à-dire le dépôt de granules et de masses pigmentaires autour des vaisseaux sanguins et dans le tissu conjonctif périlobulaire du foie, vraisemblablement dans l'intérieur et autour des vaisseaux lymphatiques. La mélanose atteste l'existence antérieure de la mélanémie.

Presque tous les auteurs attribuent l' origine de ce pigment à la substance colorante des globules rouges, mais il n' y a accord ni sur le lieu de la formation du pigment, ni sur la vraie manière dont elle se fait. On comprendra clairement ces dissidences d'après l'abrégé historique suivant de la mélanémie.

Les anciennes écoles de médecine (3) admettaient que quelquefois dans la rate et dans le sang de la veine *porte*, il se produisait des matières noires susceptibles de devenir la source de maladies. On y considérait

(1) Memorie della R. Accademia dei Lincei.

(2) La mélanémie, d'après ce qu'on en sait jusqu'à présent, ne se présente que dans l'infection par malaria, et elle a des caractères qui lui sont si spéciaux, qu'on ne comprend pas que quelques auteurs aient pu la confondre avec d'autres processus pathologiques, p. e. avec les diathèses hémorragiques, la cyanose avec la maladie d'Addison, etc.

(3) Frerichs, *Clinica delle malattie del fegato*, traduction italienne, Naples, 1867.

la bile noire comme un élément essentiel de la théorie humoristique, et Galien la faisait s'accumuler dans la rate, et occasionner l'engorgement des vaisseaux sanguins, l'obstruction des intestins, et les graves troubles nerveux. Toutefois, en laissant de côté les idées des anciens sur l'*atrabile* et ses effets sur l'organisme, on a commencé, dès le siècle dernier, à remarquer que quelques organes devenaient de couleur noire ou noirâtre dans les fièvres graves produites par malaria. Ainsi par exemple LANCISI (1), en parlant des altérations qu'il avait observées chez les personnes mortes de fièvres paludéennes, dit: *Primum in iis qui ob tertianas perniciosas occiderunt, ingens malorum sedes sub aspectum venit in abdomine, ubi omnia livida et potissimum hepar subfusci, ac bilis cysticæ atri coloris passim occurrerunt.*

Toutefois Meckel fut le premier qui observa le pigment dans le sang d'un aliéné, et le regarda comme produit par une pénétration de parcelles colorées, de la rate dans le sang.

Virchow (2) découvrit ensuite de nombreuses cellules pigmentaires dans le sang et dans la rate d'un homme mort hydropique, à la suite d'accès continuels de fièvre intermittente, et il supposa que le pigment avait son origine dans la rate, en affirmant avec insistance que la mélanémie est une dyscrasie qui procède de l'altération d'un organe.

Tigri voit la mélanose de la rate et désigne cette altération sous le nom de *rate noire.*

Frerichs (3) décrit avec soin la mélanémie et ses effets sur l'organisme. Il observa dans le sang des granules et des molécules de couleur noire des éléments cellulaires pigmentés, tantôt semblables aux leucocytes, tantôt fusiformes, tantôt cylindriques. Outre ces éléments pigmentaires Frerichs a trouvé des accumulations de granules noirs liés ensemble par une substance pâle, ou avec un entourage de substance transparente tantôt étroit, tantôt plus large, mais toujours à contours indéterminés, et des masses pigmentaires quelquefois de forme cylindrique dont les surfaces étaient entourées d'une zône plus ou moins large de substance translucide, visible quelquefois seulement d'un côté. Quant au lieu de formation du pigment, Frerichs pense que c'est la rate, d'où le pigment passerait dans la circulation générale. Pour le prouver, il a donné les arguments suivants: *a*) dans la rate normale

(1) *De noxiis paludum effluviis eorumque remediis*, Romæ, 1727.
(2) *Die cellular pathologie*, Berlin, 1881.
(3) Loc. cit.

on trouve du pigment; *b*) dans la mélanémie la rate se trouve toujours plus chargée de pigment; *c*) dans la circulation générale on trouve des endothéliums pigmentés de la rate. Frerichs croit pourtant que quelquefois le foie pourrait participer à la genèse du pigment. Quant à la façon dont se forme le pigment, Frerichs pensait que ce fait dépend de ce que dans les hypérémies malariques de la rate, le sang des capillaires se verse dans un système de vastes lacunes, où a lieu facilement une stagnation; de là la formation de masses pigmentaires par la destruction des globules rouges. Si cette formation de pigment ne se produit pas dans les autres hypérémies de la rate, cela vient de ce que, dans l'infection malarique, il se fait des changements chimiques dans le liquide splénique, qui nuisent à l'existence des globules rouges. Frerichs a donc confirmé les idées de Virchow, c'est-à-dire que dans la fièvre intermittente, le pigment se forme dans la rate, et pénètre de là dans le courant circulatoire.

Colin (1) pense, au contraire, que la formation du pigment se fait non-seulement dans les vaisseaux de la rate, mais encore dans ceux des autres organes, et que cette formation de pigment n'a rien de spécifique, parce qu'elle se fait aussi dans d'autres maladies, par exemple, dans les glandes lymphatiques du mésentère, dans le typhus et dans la dyssenterie. Dans l'infection malarique, toutefois, la destruction des globules rouges est plus rapide et plus remarquable que dans les autres maladies d'infection.

Mosler (2) est porté à admettre la doctrine de Virchow et de Frerichs, c'est-à-dire la formation primitive du pigment dans la rate. Il pense que la structure particulière de la rate se prête à cette formation du pigment, c'est-à-dire que le sang, en coulant des capillaires dans les voies sanguines intermédiaires, s'arrête assez souvent, et c'est ainsi que se forment des conglomérations de globules rouges, qui, graduellement, se convertissent en pigment. Il admet ensuite, comme Frerichs, l'altération des qualités chimiques du suc de la rate dans la tumeur par malaria.

Arnstein (3) n'accepte pas la doctrine de Virchow et Frerichs, parce qu'il pense que le pigment se forme dans le sang en circulation, et pendant l'accès fébrile. Il dit qu'on trouve le pigment libre dans le sang, quand la fièvre a précédé de peu de temps, et que, dans la majeure partie

---

(1) *Traité des fièvres intermittantes*, Paris, 1870.
(2) Ziemssen, *Handbuch*, T. 8, Part. 2, Milzkrankeiten, 1874.
(3) *Bemerkungen über Melanämie und Melanose*. — Virchow's Archiv, T. 61.

des cas, tout le pigment se trouve logé dans les globules blancs. Il a examiné les organes principalement mélanotiques, c'est-à-dire la rate, le foie, et la moelle osseuse. Dans la rate, il a trouvé le pigment autour des artères, des capillaires et des veines, et principalement autour de celles-ci, et dans tous ces vaisseaux il l'a trouvé renfermé dans les globules blancs. Ce n'est que dans des cas récents qu'il l'a trouvé dans d'autres organes (cerveau, reins, etc.). Arstein pense aussi que, contrairement à la doctrine de Virchow et de Frerichs, la mélanémie est primitive, et la mélanose secondaire, et cela principalement parce que la mélanémie ne peut se constater que peu de temps après le paroxisme fébrile (ce qui ne se comprendrait pas si la mélanose de la rate était primitive), et parce que la disposition du pigment dans le sang en circulation répond parfaitement à celle que l'on constate pour les matières colorantes (cinabre, etc.) introduites dans la circulation. Selon Arstein, donc, les globules rouges se détruisent pendant l'accès fébrile; le pigment qui s'en forme est promptement absorbé par les globules blancs, qui s'arrêtent dans les veines et dans les capillaires des organes, où la rapidité du courant est faible, c'est-à-dire dans la rate, dans le foie et dans la moelle osseuse. Ensuite, les cellules blanches pigmentées se déposent dans les tissus de ces organes, tandis qu'elles demeurent plus longtemps dans les capillaires du foie. Quant au mode de formation du pigment, il dit l'ignorer absolument, parce qu'on ne peut pas suivre les processus de destruction dans les corpuscules rouges; il admet pourtant que la formation du pigment puisse se faire dans le sérum du sang par l'hémoglobine qui sort des corpuscules rouges. Il ne croit pas que le pigment se forme dans les cellules blanches, selon ce que Langhaus a observé dans les hémorrhagies, parce que dans le sang en circulation on trouve du pigment libre, et qu'on ne trouve pas de cellules globulifères. On trouve pourtant de ces cellules dans la rate et dans la moelle osseuse, mais elles sont rares en comparaison de l' énorme quantité de pigment qui se trouve dans le sang en circulation.

Mosler (1), dans un travail postérieur à celui qui vient d'être cité, ne convient pas avec Arstein que le pigment se trouve seulement peu de temps après l'accès fébrile, ni qu'il soit absolument erroné de croire que la formation du pigment ait lieu dans la rate. Il cite le cas d'un homme affecté de fièvres par malaria, et chez lequel la présence du pigment se trouvait, non-seulement pendant et peu après le paroxysme

---

(1) *Ueber der Vorkomen das Melänamie.* — Virchow's Archiv., T. 69.

de la fièvre, mais encore plusieurs mois après (1). Il soutient ensuite avec insistance que la formation du pigment se fait uniquement dans la rate, ou que tout au moins elle a lieu dans cet organe plus rapidement et plus abondamment ensuite de graves congestions.

Lanzi et Terrigi (2) font remarquer la grande analogie qui existe entre les granules pigmentaires que contiennent le sang et les organes dans la mélanémie, et ceux qui existent dans les terrains marécageux, et spécialement dans l'intérieur des cellules des algues de marais; ils soupçonnent que les premiers peuvent être identiques aux seconds, qui pénétreraient dans l'organisme par les voies respiratoires.

Kelsch (3), dans un travail très soigné, résume les observations faites sur 1181 malades d'infection malarique aiguë et chronique, recueillis à l'hôpital de Philippeville. Il s'est occupé principalement de l'étude du sang et de l'étude histologique des organes particulièrement atteints. Dans le sang, il a trouvé une diminution du nombre des globules rouges, relevée par la méthode de Malassez. Ensuite il fait remarquer qu'il y a peu de maladies qui engendrent une oligocytémie aussi rapide et aussi grave que l'infection malarique; vingt ou trente jours de fièvre quotidienne simple ou de fièvre tierce, suffisent pour diminuer le nombre des globules rouges de 5 millions par mm.c. à 1 million, et quelquefois jusqu'à moins de 500,000. La diminution des globules rouges atteint son *maximum* de rapidité quand la maladie se déclare, et tend d'autant plus à s'amoindrir à mesure que le sang devient plus oligocytémique, et que les accès s'éloignent. Dans les cachexies le nombre des globules rouges reste stationnaire, ou présente des diminutions insignifiantes. Outre cette diminution des globules rouges, Kelsch a trouvé dans le sang des malariques, spécialement dans les fièvres pernicieuses, la présence du pigment, soit libre, soit enfermé

---

(1) On observe encore dans nos hôpitaux de cas semblables à celui cité par Mosler. L'un de nous se rappelle avoir observé à la clinique médicale du prof. Maggiorani un cas de mélanémie, pendant lequel, dans toute la durée de l'observation, la température a oscillé entre 36 et 37; une seule fois elle s'est élevée à 38, et dans les derniers jours, au matin, le thermomètre n'a pas dépassé 35-6, tandis que dans le sang, pendant la vie, comme après la mort, l'on a trouvé une grande quantité de pigment (V. *Ragguaglio di due turni di clinica medica di Roma*, del professore Carlo Maggiorani, 1873).

(2) *La malaria e il clima di Roma*, 1877.

(3) *Contribution à l'anatomie pathologique des maladies palustres endémiques. Observations sur l'anémie, la mélanémie et la mélanose palustre.* — Archiv. de physiol. nor. et path., 2e série, T. 2.

dans des *masses transparentes*, mais le plus souvent enfermé dans des cellules blanches. Les éléments mélanifères renferment 3-6 granules de pigment, quelquefois mis en séries en couronne dans la périphérie de l'élément. Outre ces éléments, il en a encore trouvé d'autres qui offraient un reflet brunâtre accentué dans la zône marginale, où se rencontraient quelquefois des granules noirs très fins; et dans les veines splénique et porte, il a reconnu la présence des cellules mélanifères, très variables dans leur forme et dans leurs dimensions; la forme était sphérique, polyédrique, ovoïde, allongée, ou comme celle d'un biscuit, etc. De l' étude des organes, Kelsch en vient à conclure que le pigment mélanémique se dispose absolument comme le pigment artificiel injecté dans les veines, ou libre, ou logé dans les cellules. Quant au mode de formation du pigment, Kelsch repousse la doctrine de Virchow et de Frerichs. Dans un cas de pernicieuse foudroyante, il a trouvé peu de pigment dans la rate, tandis que le sang en était très riche. De plus, il croit que le pigment se forme dans le sang en circulation. En outre, il ne peut admettre que plusieurs des éléments mélanifères représentent le stroma des globules rouges décolorés avec des granules pigmentaires formés aux dépens de l'hémoglobine, parce que on ne peut trouver les stades intermédiaires de cette métamorphose régressive. Il n'admet pas non plus la formation intra-cellulaire du pigment, qu'admet Langhaus, parce que le pigment se trouve même libre dans le sang. Il en revient alors à l'hypothèse que la matière mélanique existe dans le sérum à l'état de solution et procède de la destruction des globules rouges; cette matière pigmentaire se précipite, quand le sang en est saturé, sous forme de granules, qui sont bientôt renfermés dans les globules blancs, comme il arrive pour le cinabre injecté dans le sang.

L'un de nous (Marchiafava) (1), en étudiant la pulpe splénique et la moelle osseuse d'enfants mélanémiques, a trouvé des globules rouges, généralement renfermés dans des cellules blanches (*cellules globulifères*); ils offraient une coloration variée, allant du jaune brunâtre jusqu'au noir plus ou moins intense, et prenaient l'apparence de petites sphères noires d' un diamètre un peu moins grand que celui des globules rouges. Il en conclut, alors, que les globules rouges ne donnent pas lieu à la formation du pigment après leur destruction; mais qu'au contraire la conversion de l'hémoglobine en pigment noir se fait graduellement dans le globule rouge.

---

(1) *Commentario clinico di Pisa*, Janvier, 1879.

Klebs et Tommasi-Crudeli (1), en étudiant les altérations de la rate chez des lapins auxquels ils avaient donné artificiellement des fièvres malariques graves, ont trouvé des globules rouges, d'abord couleur nikel, et conservant leur forme discoïde, puis de couleur noire, et renfermés, isolés ou par groupes dans des cellules blanches, par la destruction desquelles, ils devenaient libres et se réduisaient en grains. Ils ont conclu de là que la conversion de l'hémoglobine en pigment noir, se fait dans le corpuscule rouge, quand il a encore sa consistance semifluide. De plus Tommasi-Crudeli (2) soutient que cette dégénération des globules rouges arrive dans tout le système vasculaire, et principalement dans les vaisseaux de la rate et dans ceux de la moelle osseuse. Il dit que dans la mélanémie il se fait une *nécrobiose* des globules rouges, produite par une atrophie dégénérative spécifique de leur protoplasme.

Afanassiew (3) a fait ses études sur les malades des troupes russes dans la dernière guerre russo-turque. Il décrit les affections de la rate, du foie, des reins et du cerveau dans les cadavres des malariques. Sa description est conforme à celle des autres observateurs en ce qui regarde la rate, le foie et les reins. Dans le cerveau il a trouvé un trouble distinct du protoplasme des cellules nerveuses, avec agrandissement des espaces péri-cellulaires, les parois des capillaires quelquefois granuleuses, l'endothélium gonflé, les granules pigmentaires tantôt dans la lumière des vaisseaux, tantôt dans les cellules endothéliales, tantôt dans les espaces péri-vasculaires. Il décrit ces granules, quand ils sont isolés et qu'ils n'ont pas donné lieu à la formation de grains, comme étant parfaitement ronds, d'égale grosseur, et ayant un centre d'un brun brillant, soulève des doutes sur leur dérivation de la substance colorante du sang, et se demande s'ils ne proviennent pas d'autre part, trouve qu'ils ont de l'analogie avec les *microcoques chromogènes* de Cohn, et soupçonne que leur nature est parasitaire.

Les récents travaux de Laveran et de Richard se rattachent à l'histoire de la mélanémie.

Laveran (4) pense que les éléments pigmentés décrits en partie par Kelsch (5), et différents des cellules blanches mélanifères représentent

(1) *Studi sulla natura della malaria.* — Actes de l'Académie royale des Lincei, 1879.

(2) *Istituzioni di anatomia patologica.* Loescher, Turin, 1882-84,

(3) *Beitrag zur Pathologie der Malaria infection.* — Virchow's Arch, T. 84, 1881.

(4) *Nature parasitaire des accidents de l'impaludisme*, etc. Paris, 1881. — Comptes rendus, 1882.

(5) Loc. cit.

des éléments parasitaires. Il décrit trois formes de ces éléments pigmentés qu'il considère comme de nature parasitaire: 1° Eléments allongés, affilés à l'extrémité, presque toujours courbes en demi-lune, longs de $0^{mm},008$ à $0^{mm},009$, larges de $0^{mm},003$, en moyenne; leurs contours sont indiqués par une ligne très fine, leur corps est d'une transparence incolore, sauf dans la partie du milieu où il y a une tache faite de granules noirâtres; souvent, du côté de la concavité, on aperçoit une ligne très fine qui réunit les extrémités de la demi-lune; 2° Eléments sphériques, transparents, du diamètre des hématies en moyenne, contenant des granules pigmentaires, qui, à l'état de repos, décrivent souvent un cercle très régulier, et qui, à l'état de mouvement, s'agitent vivement: quelquefois on remarque à la périphérie de ces éléments des filaments très fins, qui paraissent s'y fourrer, qui sont animés, dans tous les sens, de mouvements très rapides, et qui ont l'extrémité libre légèrement renflée; ces filaments peuvent se détacher et se mouvoir librement au milieu des hématies; 3° Eléments sphériques, de forme irrégulière, transparents et finement granuleux, de $0^{mm},008$ à $0^{mm},010$ de diamètre, contenant des granules pigmentaires, qui, tantôt sont disposés très irrégulièrement à la périphérie, tantôt s'agglomèrent soit au centre, soit sur un point de la périphérie même. Selon la description de Laveran, on trouve aussi dans le sang des éléments sphériques, transparents, contenant des granules pigmentaires mobiles ou immobiles, éléments d'un diamètre plus petit que celui des précédents, tantôt isolés, tantôt réunis, tantôt adhérents aux hématies et aux leucocytes. Laveran croit que ces corps pigmentés représentent des phases diverses d'un élément parasitaire, dont il ne peut dire s'il appartient aux animaux, ou aux végétaux, qui vit à l'état enkysté, et qui, à l'état parfait, devient libre sous la forme de *filaments mobiles*. Outre ces éléments, Laveran a remarqué dans le sang des corps brillants, ronds, mobiles, sans caractère spécifique, leucocytes mélanifères, hématies qui semblent percées sur un ou plusieurs points, renfermant du pigment et granulations pigmentaires libres provenant de la destruction des éléments parasitaires.

Richard (1) a pleinement confirmé les observations faites par Laveran, mais au lieu de penser, comme cet observateur, que les petites formes pigmentées se trouvent adhérentes aux corpuscules rouges, il croit qu'elles existent dans ces corpuscules mêmes, où elles se développent et croissent pour en sortir à l'état parfait. Il décrit ces corps pigmentés pa-

(1) *Sur le parasite de la malaria.* — Compte rendu, 1882.

rasitaires dans leurs diverses phases de développement dans les globules rouges, jusqu'à ce qu'arrivés à l'état de maturité ils percent la membrane (?) du globule rouge, et deviennent libres dans le sang, en se présentant ainsi munis quelquefois de filaments très mobiles comme les corps décrits par Laveran.

Ces deux derniers auteurs remarquent que dans les organes des sujets morts d'infection malarique grave, ces prétendus parasites se reconnaissent dans les capillaires, au pigment qui se trouve disposé à leur périphérie en séries circulaires. Il est juste de dire ensuite, qu'on doit attribuer à ces deux auteurs le mérite d'avoir fixé l'attention des observateurs sur des éléments pigmentés vus déjà en partie par d'autres (Frerichs, Kelsch, etc.), et qui ne sont pas les cellules blanches du sang, et au second, c'est-à-dire à Richard, celui d'avoir noté que les corps pigmentés se trouvent dans les globules rouges.

D'après cet abrégé de l'histoire de la mélanémie, on voit clairement combien les opinions des auteurs varient, tant sur le lieu de formation du pigment, que sur le mode précis dont il se forme. Il y a ensuite une autre catégorie d'auteurs, dont les uns suspectent la nature parasitaire des granules pigmentaires, et d'autres les regardent comme partie constituante de l'élément parasitaire. Il était donc de quelque intérêt de revenir sur l'étude de la mélanémie d'une manière plus attentive, et en employant les moyens dont la technique microscopique s'est récemment enrichie.

Cette étude ne put se faire avec tout le développement désirable, parce que, depuis quelques années, l'infection malarique est devenue faible à Rome, et dans la campagne romaine, et par conséquent les formes malariques graves ne sont pas fréquentes dans les hôpitaux de Rome, où toutefois abondent les formes légères de fièvres intermittentes. Cette diminution dans la gravité de l'infection malarique trouve encore sa confirmation dans la salle d'anatomie, où, sur les cadavres des paysans morts d'autres maladies, il n'arrive pas de trouver aussi souvent que par le passé, la mélanose de la rate, du foie, et de la moelle osseuse; mélanose qui atteste la mélanémie antérieure.

Les études dont nous rendons compte, ont été faites sur le sang des fiévreux, recueillis à l'hôpital du *Santo Spirito* (1) de juillet à la mi-octobre 1883.

---

(1) Nous accomplissons un devoir en remerciant le professeur F. Scalzi, directeur de l'hôpital, le professeur E. Rossoni, chargé de l'enseignement de la clinique médicale, et les chefs de service et assistants de l'hôpital, qui, tous, nous ont fourni beaucoup de moyens nécessaires à nos études.

La méthode que nous avons employée pour l'examen du sang est la suivante.

Le sang a été pris d'une piqûre ou d'une petite incision faite avec une lancette au doigt des fiévreux, dans les différentes phases de l'accès. Avant de faire la piqûre ou l'incision, on lavait soigneusement la peau avec de l'alcool, et on attendait qu'il fût évaporé; on laissait souvent de côté la première goutte de saug pour n'opérer que sur celles qui venaient après. Sur la goutte de sang qui sortait de la blessure on appliquait délicatement un couvre-objets, pour qu'il s'y en déposât une très petite partie; ensuite on le comprimait contre un autre couvre-objets, puis on les faisait glisser l'un sur l'autre, de manière que sur chacun il restât une très légère couche de sang qu'on faisait sécher en le passant deux ou trois fois sur la flamme d'une lampe à esprit de vin; puis sur la préparation on faisait tomber uue ou deux gouttes d'une solution aqueuse ou alcoolique de *bleu de méthylène*, récemment filtrée, et après quelques minutes on lavait largement la préparation dans un récipient contenant de l'eau distillée, on la faisait sécher de nouveau et on la renfermait dans de l'huile de girofle, de l'huile de cèdre, ou du baume du Canada.

On voit clairement que cette méthode de préparation est celle employée pour la recherche des microrganismes et des éléments cellulaires dans les liquides, et qu'on doit principalement à R. Koch et à P. Ehrlich (1). L'examen microscopique a été fait avec l'objectif de Zeiss $\frac{1}{12}$ à immersion homogène.

Maintenant nous exposerons le résultat des observations.

Par la méthode indiquée, les globules rouges normaux se colorent légèrement en bleu, ou, si la substance colorante a agi peu de temps, et peut-être même en raison du degré de dessèchement, ils restent de leur couleur jaunâtre. Les globules blancs présentent une coloration bleu-pâle de leur protoplasme, et une coloration intense du noyau; c'est-à-dire de la membrane nucléaire ainsi que des granules et du réseau nucléaires. Les petites plaques se colorent en bleu un peu moins pâle que le protoplasme des cellules blanches. Mais, dans le sang des individus atteints de l'infection malarique, on trouve, au milieu des globules rouges normaux, d'autres globules rouges qui présentent des altérations de leur protoplasme, altérations très évidentes dans ces globules qui ne se co-

(1) Friedlander, *Microscopique Technik Zum Gebrauch bei medicinischen und pathologisch-anatomischen Untersuchungen.* Kassel und Berlin, 1883.

lorent pas en bleu. Elles consistent dans la présence, dans le globule, de corpuscules en nombre variable, différents de grandeur et de forme, qui arrivent à se colorer en bleu, avec plus ou moins d'intensité, mais toujours à un degré suffisant pour qu'on les distingue nettement du protoplasme, coloré ou non, du globule rouge.

Ces corpuscules, pour passer des formes les plus petites aux formes les plus grandes, se présentent: *a)* comme des granules généralement ronds, qui se colorent avec plus ou moins d'intensité et uniformément en bleu, et peuvent souvent ressembler à des microcoques; on en trouve un ou plusieurs dans un globule rouge; dans certains cas, les deux tiers environ des globules rouges présentent un, deux, rarement trois ou quatre de ces corpuscules, ils varient de grandeur, car il y en a qui sont semblables à de très petites granulations, et d'autres grands comme un gros microcoque; *b)* comme des corpuscules plus grands que les précédents, avec un vide au milieu, de façon à représenter des anneaux plus ou moins grands, plus ou moins minces; on trouve de ces anneaux de grandeur à occuper le tiers ou même la moitié d'un globule rouge, de forme tantôt sphérique, tantôt ovulaire, tantôt irrégulière et comme dentelée; quelquefois ils ont un mince prolongement qui se termine libre dans le protoplasme du globule rouge, ou bien se réunit à un autre anneau voisin; de ces formes on en trouve une, deux, trois ou même plus dans un seul globule rouge; *c)* comme des corpuscules plus grands que les premiers, colorés uniformément, ou avec des vacuoles de forme sphérique, ovulaire, fusiforme, semilunaire, triangulaire, formant quelquefois des masses très irrégulières, qui généralement présentent dans leur intérieur des granules ou des mottes de pigment noir, ou noir de rouille. Les masses plus grandes, de forme régulière ou non, envahissent dans certains globules rouges tout le protoplasme coloré par l'hémoglobine, dont il reste ou un mince contour, ou un bord plus ou moins mince sur quelque point de la périphérie, et qui est quelquefois à peine visible, malgré l'examen le plus attentif. A côté de ces globules rouges ainsi altérés, on trouve des corps colorés comme les masses sus-décrites, riches de mottes ou de granules pigmentaires, de forme sphérique, ovulaire, semilunaire ou irrégulière. Ces corps représentent évidemment le dernier degré de l'altération du globule rouge, qui se convertit ainsi en un corps sans hémoglobine, qui se colore avec le bleu de méthylène, et contient du pigment. Outre ces globules rouges, dont on peut suivre les altérations dans leurs phases diverses, jusqu'à leur conversion en une masse pigmentée, on trouve dans les prépara-

tions des fragments toujours pigmentés de cette masse, ayant différentes formes, et des globules blancs dans le protoplasme desquels on trouve du pigment en forme de granules et de mottes, plus grands que ceux trouvés dans les masses renfermées dans les globules rouges.

Si l'on mêle une goutte d'eau distillée très pure au sang qui sort de la blessure, puis qu'on le dessèche et qu'on le colore comme dans la première méthode, alors parmi les corpuscules rouges normaux, qui ont perdu l'hémoglobine et qui sont marqués d'un contour très fin, on en voit d'autres qui ont également perdu l'hémoglobine, qui sont également indiqués par un contour très fin, mais qui contiennent dans leur intérieur les petits corpuscules mentionnés, colorés en bleu avec intensité et nettement distincts.

Nous avons coloré le sang avec d'autres couleurs d'aniline, acides et basiques, et voici le résultat obtenu. Avec l'éosine les corpuscules se colorent en rose pâle, tandis que le reste du globule rouge se colore fortement en rouge jaunâtre, le pigment reste sans changement. Avec la vésuvine ils se colorent en rouge brun. Avec la tropéoline ils ne se colorent pas de tout, et se reconnaissent dans le globule rouge coloré d'un beau jaune clair, comme autant de taches contenant ou non du pigment.

En examinant le sang tout frais, sans aucun traitement, on ne voit que les plus grands corpuscules apparaître comme autant de taches décolorées et pigmentées comme celles qui avaient déjà été décrites par Richard (1). Les globules rouges, dans lesquels se trouvent les petits corpuscules ronds, analogues aux microcoques, apparaissant normaux, ou s'il y a des taches, on ne peut les distinguer de ces lacunes, qui se forment accidentellement dans les globules rouges normaux. Les taches pigmentées se présentent sous des formes variées, elles grandissent graduellement et se réunissent entre elles de façon que tout le globule rouge se convertit en un corps décoloré, d'aspect hyalin, contenant des granules et des mottes de pigment. Quand le globule rouge contient un ou plusieurs corpuscules pigmentés, et qu'il reste encore une certaine quantité de son protoplasme coloré, il conserve toujours son élasticité normale. Quand, au contraire, il s'est converti en un corps jaune pigmenté, quelquefois il conserve son élasticité; quelquefois, au contraire, cette élasticité diminue, et le globule altéré adhère au porte-objets, ou au couvre-objets, sans qu'il se meuve à la compression, ou bien il ne

(1) *Sur le parasite de la malaria.* — Compt.-rend., 1882.

se meut que lentement. Les granules pigmentaires qui se trouvent tant dans les globules rouges tachetés que dans les globules rouges complétement décolorés, forment les figures les plus variées quand les globules se meuvent; ainsi, ou bien ils se disposent en cercle à la périphérie des taches du globule, ou bien ils forment divers petits groupes circulaires, ou bien ils prennent d'autres formes irrégulières. Quand les globules rouges sont en repos, les granules pigmentaires sont ou immobiles, ou se meuvent vivement, comme se meuvent les granulations dans les globules blancs, spécialement dans ceux qui se trouvent dans le sérum fixé sur le coagulum. Dans les préparations de sang frais on rencontre d'autres formes de globules rouges altérés, c'est-à-dire de ceux qui ne présentent qu'une moitié décolorée et de forme semilunaire, ayant au centre ou sur un point de la périphérie des mottes pigmentaires, ou de ceux qui ont perdu en partie ou totalement l'hémoglobine et qui présentent au centre une seule tache de pigment noir, arrondie, irrégulière, ayant quelquefois la forme d'un embryon. On trouve encore des corps hyalins, ronds ou irréguliers pigmentés, et des globules blancs richement pigmentés. En traitant le sang par l'eau distillée, les globules rouges altérés commencent par se déformer, puis ils prennent une figure parfaitement sphérique, comme les autres globules rouges. Par l'action de l'acide acétique concentré et de l'alcool, les globules rouges altérés se reconnaissent au pigment qu'ils contiennent; avec une solution de potasse caustique le pigment se dissout lentement au bout de 10 à 15 minutes. L'action du ferrocyanure de potassium et de l'acide hydrochlorique très pur ne produit pas la réaction caractéristique du fer dans les granules et dans les mottes pigmentaires.

Tel est le résultat de l'examen microscopique du sang d'individus atteints d'infection malarique, spécialement pendant l'accès fébrile.

Retrouve-t-on toujours cette altération des globules rouges dans l'infection par malaria? A cette question nous devons répondre que si, dans bien de cas, les globules rouges altérés sont très nombreux, dans d'autres ils sont très rares, et qu'il faut faire diverses préparations pour en trouver, et qu'enfin, dans d'autres cas, on n'arrive pas à en trouver. Si cette rareté ou ce défaut de l'altération des globules rouges s'est fait plus facilement reconnaître dans les formes légères d'infection malarique, c'est-à-dire dans la fièvre intermittente simple, nous avons toutefois noté les mêmes particularités dans les cas graves de fièvre, regardés cliniquement comme infection par malaria. Dans les formes de *fièvres pernicieuses comateuses* qui se sont terminées par la mort, ainsi que dans les cas de fièvres

sub-continues, nous avons toujours noté cette même altération. Quand ces altérations des globules rouges se trouvent dans le sang, les individus ont toujours un aspect particulier durant le cours de la maladie ; c'est-à-dire que leur peau prend rapidement une nuance jaune-terreuse, la faiblesse est très grande, et ils se rétablissent plus lentement, plus difficilement. Un travail important serait d'étudier le rapport entre le degré de l'altération du sang et la marche clinique de l'infection.

Parlons maintenant plus particulièrement des altérations trouvées dans le sang et dans les organes des individus morts des fièvres pernicieuses. Nous ne parlerons que des cas qui se sont produits cette année, c'est-à-dire depuis que nous avons étudié les altérations qui ont lieu dans les globules rouges pendant la vie, et nous les exposerons en entier, en faisant d'abord un abrégé des faits, et en décrivant l'examen du sang avant la mort.

1er cas. *Fièvre pernicieuse algide.* — R. D., âgé de 25 ans, est entré à l'hôpital le 11 août, souffrant de fièvres intermittentes à type quotidien, et il en a eu plusieurs accès à l'hôpital même. A la visite de l'après-midi du 14, il fut trouvé dans un état d'abattement profond, la peau très froide, cyanotique, et les pouls imperceptibles. On fit des injections hypodermiques de quinine, qui lui avait été administrée intérieurement les jours précédents. Le lendemain, il mourut à 2 3[4 du matin.

L'examen du sang frais, fait pendant la vie, accuse de nombreux globules blancs la plupart pigmentés : les globules rouges ne présentent pas d'altérations manifestes.

Après la coloration faite d'après la méthode indiqué, on trouve que beaucoup de globules rouges présentent dans leur intérieur, un, deux, rarement trois corpuscules, dont quelques-uns, petits, sont colorés plus ou moins uniformément, et d'autres quelque peu plus grands, avec un vide au milieu, se présentent comme des anneaux bleus.

Autopsie (7 heures du matin, le même jour). — Rigidité cadavérique persistante. Peau pâle.

Méninges et cerveau avec peu de sang. La substance grise, pâle.

Cœur normal ; le myocarde de couleur rouge-grisâtre.

Poumons légèrement œdémateux.

Rate agrandie deux fois, avec de nombreux infarctus hémorragiques, périphériques récents ; parenchyme mou de couleur rouge sombre.

Foie de volume normal, avec coloration ictérique de la partie centrale des lobules.

Reins avec capsule facilement détachable, superficie grisâtre, glomérules non proéminents pâles, substance des tubes contournés gris-jaunâtre ; muqueuse du bassinet et des calices avec de nombreuses hémorragies.

L'estomac présente la muqueuse gonflée et hypérémique, parsemée de nombreuses hémorragies.

Intestin normal; vessie dilatée.

On a recueilli du sang de diverses régions vasculaires, et on en a fait des préparations colorées, comme celles faites par la même méthode pour la pulpe splénique et la moelle des côtés. Ces préparations montrent à l'examen microscopique, de nombreux globules rouges contenant les corpuscules observés pendant la vie ; quelques-uns de ces corpuscules, plus grands, contiennent du pigment; dans la moelle osseuse on observe de nombreux globules rouges à noyau.

L'examen microscopique des divers organes durcis avec l'alcool, et colorés au brun de Bismark ou au bleu de méthylène, démontre dans les vaisseaux sanguins, principalement dans les capillaires, les corpuscules décrits, fortement colorés: si les globules rouges sont reconnaissables par leurs contours, ces corpuscules se voient distinctement dans leur intérieur, mais si les globules rouges se sont désagrégés en produisant le détritus bien connu gris jaunâtre, alors les corpuscules se voient avec une égale netteté, épars dans ce détritus, et pourtant ils ne se défont pas comme les globules rouges. Dans les capillaires des divers organes, principalement dans ceux du cerveau, les intervalles réguliers qui séparent ces corpuscules l'un de l'autre font reconnaître qu'ils sont contenus dans les globules rouges, même quand les contours de ceux-ci sont indistincts. Dans le rein, les capillaires et les petites veines présentent beaucoup de ces corpuscules, au milieu des globules rouges convertis en petites granulations. Dans tous les vaisseaux sanguins on trouve, de plus, des globules blancs pigmentés, et des corps pigmentés colorés en bleu, représentant la dernière altération des globules rouges.

2ème cas. *Fièvre pernicieuse comateuse.* — P. E, âgé de 40 ans, est entré à l'hôpital le 19 septembre, dans l'après-midi, dans un accès de fièvre pernicieuse comateuse. On n'a pas eu de nouvelles anamnestiques, on a pu seulement savoir qu'il venait de la campagne. La mort arriva dans la matinée suivante.

L'examen microscopique du sang frais montre de rares cellules blanches pigmentées, des globules rouges avec corpuscules pigmentés, de nombreux corps hyalins de forme variée, sphériques, ovalaires, en fuseau, semilunaires contenant des granules et des mottes pigmentaires; quelques-uns de ces corps jaunes ont, à la périphérie, une zone de protoplasme coloré par l'hémoglobine; on voit quelque forme semilunaire

venir de ce qu'une moitié du globule rouge s'étant convertie en une masse hyaline pigmentée de cette forme, l'autre moitié est restée décolorée, et qu'on n'en voit que le mince contour.

L'examen fait peu de temps avant la mort a révélé un nombre plus grand de globules blancs pigmentés.

Les préparations colorées offrent de nombreux globules rouges contenant des corpuscules ronds, soit dans le centre, soit à la périphérie, soit colorés uniformément, soit avec un vide au centre, ou bien des anneaux bleus de différentes formes et de différentes grandeurs.

Autopsie (sept heures après la mort). — Oedème des méninges molles. Substance cérébrale blanche parsemée d'hémorragies ponctiformes (1), substance grise de couleur rouge sombre.

Oedème pulmonaire bilatéral. Hydrothorax, hydropéricarde, cœur normal, myocarde de couleur rouge-brunâtre.

Rate de forme triangulaire agrandie du triple, très molle, de couleur chocolat.

Foie du couleur gris sombre, lobules indistincts.

Reins de couleur gris sombre et pauvres de sang: moelle des os courts et plats, de la couleur du parenchyme de la rate.

Rien d'important dans les autres organes.

---

(1) Des observations faites, pendant les années précédentes, par l'un de nous (Marchiafava) et aussi en partie par Ferraresi, il résulte que dans certains cas de pernicieuse comateuse on trouve la substance cérébrale surtout dans le centre ovale, remplie d'hémorragies ponctiformes. On les retrouve aussi dans la rétine, où pourtant la présence d'hémorragies ponctiformes ne doit pas faire conclure que dans ce cas donné de peruicieuse, il s'est produit des hémorragies cérébrales, parce que les hémorragies dans la rétine peuvent être isolées; nous avons vu de cas de pernicieuse comateuse, dans lesquels les hémorragies se trouvaient dans une zône limitée du centre ovale, et de la capsule interne, ou du tronc du cerveau. Dans un cas on a trouvé des hémorragies seulement dans la capsule interne droite, et dans un petit espace du centre ovale du même côté. Ces remarques expliquent les hémiplégies qui restent après un accès de pernicieuse comateuse. L'un de nous a vu une dame qui est hémiparétique d'un second accès de pernicieuse comateuse, qu'elle a souffert il y a trois ans. Nous avons vu d'autres cas de paralysie après infection par malaria, dans le cabinet électro-thérapique du prof. Brunelli. Ensuite tous les médecins savent que dans les formes pernicieuses, il se produit fréquemment des hémorragies, et que même beaucoup de pernicieuses tirent leur nom du siège de ces hémorragies comme les pernicieuses, hémoptoïque, entérorrhagique, métrorragique, hématémétique, etc. Il est bon de mentionner un cas de *pernicieuse pneumorrhagique*, observé à l'hôpital du Saint-Esprit, et dans lequel, à l'autopsie, on a trouvé les deux poumons frappés d'infarctus hémorragiques envahissant presque tout le parenchyme pulmonaire.

L'examen microscopique du sang a donné le même résultat que pendant la vie; peut-être les globules rouges contenant des corpuscules étaient-ils plus abondants.

Quant à l'examen des organes durcis et colorés, il est à propos de rappeler que les capillaires du cerveau se présentent distendus par des globules rouges, contenant les corpuscules susdits, fortement colorés par les substances employées à cet effet, et sans ombre de pigment: on rencontre très rarement dans les capillaires du cerveau, les globules blancs pigmentés, et les formes pigmentées observées pendant la vie.

3ème cas. *Fièvre pernicieuse comateuse.* — M. L., charretier, hors de la Porta Maggiore, est entré à l'hôpital, le 6 octobre, à 10 heures du matin, déjà dans un coma profond, et avec une fièvre haute. Ceux qui l'accompagnaient disent que depuis quelques jours il souffrait des fièvres, et que, dès le matin, ils l'avaient trouvé en cet état dans une écurie. Après l'iniection et l'administration interne de quinine, il se réveilla quelque peu, il réagit aux stimulants cutanés, mais sans reprendre ses sens. Peu après il retombait dans un coma profond. Il avait une dispnée très grave, pulsations 140, température 39°, la peau d'un jaune sale, rate gonflée et très douloureuse, râle trachéal. A six heure du soir il était mort.

Examen du sang frais: Globules blancs pigmentés en grand nombre, quelques globules rouges avec des taches claires contenant de petits grains de pigment noir.

Examen après dessèchement et coloration: à peu près dans la moitié des globules rouges, on trouve soit des corpuscules parfaitement sphériques, se colorant fortement avec le bleu de méthylène, soit des corpuscules plus grands avec un vide au milieu, apparaissant en forme d'anneaux de différentes formes et de différentes grandeurs; quelques-uns pourvus d'un prolongement qui se termine libre, ou qui se réunit à un anneau voisin.

Autopsie (12 heures après la mort). — Cadavre d'un homme robuste. Bonne nutrition. Couleur de la peau jaune livide. Conjonctive bulbaire légèrement ictérique. Sur la face interne de la dure mère à droite, en correspondance du lobe frontal, on trouve deux hémorragies recouvertes de membranes minces s'étendant au-delà de leur limite et pourvues de nombreux petits vaisseaux sanguins. Deux autres hémorragies ayant les mêmes caractères à gauche, en correspondance des circonvolutions centrales. Infiltration hémorragique des méninges molles dans les pôles occipitaux. Substance blanche pointillée. Hémorragies ponctiformes dans le centre ovale des lobes occipitaux. Substance grise d'un coloris rouge noîratre. La substance grise des ganglions présente la même coloration, mais à un degré moindre, comme c'est à un degré moindre que la substance grise du pont du bulbe de la moelle épinière présente cette même coloration.

Cœur normal pour la forme et le volume ; myocarde de couleur brunâtre, facile à déchirer; poumons congestionnés et œdémateux dans les parties postérieures.

Rate agrandie du triple, capsule tendue; parenchyme couleur chocolat foncé, très mou; glandes lymphatiques de l'hile de la rate tuméfiées, très molles, de couleur rouge foncé.

Reins pâles, flasques.

Estomac et duodénum avec de nombreuses hémorragies de la muqueuse.

Foie de volume normal, riche de sang foncé, la superficie de section a une couleur rouge ardoise.

Vésicule biliaire gonflée de bile.

Intestin normaux, sauf le dernier bout de l'iléum, qui présente des taches hypérémiques-hémorragiques, et une enflure molle des follicules agminés.

Vessie avec un peu d'urine trouble, contenant, comme on l'a trouvé à l'examen chimique, de l'albumine et des pigments biliaires, et à l'examen microscopique, des cellules rouges et blanches, des cylindres granuleux de couleur jaunâtre, de différents calibres.

L'examen microscopique du sang donne le même résultat que celui obtenu pendant la vie toutefois les corpuscules contenus dans les globules rouges sont évidemment plus nombreux et il y en a de pigmentés. Dans les vaisseaux sanguins des organes il y a de nombreux globules rouges altérés de la manière qui a été plusieurs fois rappelée. — Les vaisseaux capillaires du cerveau se trouvent distendus par des globules rouges contenant un gros corpuscule coloré en bleu ou en rouge, selon que les sections se colorent avec le bleu de méthylène, ou avec la vésuvine et contenant toujours une motte de pigment de forme arrondie. Dans les coupes du cerveau durci dans l'alcool, ces corpuscules paraissent libres dans les capillaires, mais un examen très attentif fait voir qu'ils sont contenus dans les globules rouges. La pulpe splénique et la moelle osseuse sont très riches en globules rouges plus ou moins altérés, et cette dernière contient un nombre considérable de globules rouges à noyau.

La rate et la moelle osseuse de ces cadavres ont aussi servi à rechercher si le pigment noir qu'elles contiennent donne la réaction du fer qu'on ne réussit pas à avoir dans le même pigment enfermé dans les globules rouges. Comme liquide de réaction, nous nous servions d'une solution de ferrocyanure de potassium (1 pour 12) légèrement acidulée avec de l'acide hydrochlorique chimiquement pur. — De petits brins de rate mélatonique, coupés et séparés avec des aiguilles de verre, et placés avec une goutte du réactif sous le microscope, montrent la réaction du fer dans quelques globules rouges, dans un très grand nombre de globules blancs, soit faible, soit intense, dans beaucoup de

cellules globulifères, dont les unes n'ont que la coloration diffuse du seul protoplasme, et d'autres présentent la même réaction dans les globules rouges enfermés (1). Mais, même après 24 heures d'action du réactif, la plupart des granules et des mottes pigmentaires, ne perdent pas leur propre couleur noire de rouille. Le même résultat négatif a été remarqué en traitant ainsi les foies et les cerveaux contenant du pigment; dans ceux-ci pourtant, il y avait une légère coloration bleue des corpuscules enfermés dans les globules rouges, tandis que le pigment qu'ils contenaient restait inaltéré. La réaction n'a pas pu être obtenue non plus en élevant graduellement la température jusqu'à 80° C. Du reste Perls (2) avait déjà observé que dans la rate et dans le foie tout le pigment noir ne donne pas la réaction du fer, pas plus que ne la donnent les pigments biliaires, l'hématoïdine, le pigment de la choroïde et son homologue dans la rétinite pigmenteuse.

Par ces trois cas caractéristiques d'infection malarique terminés par la mort on a une confirmation de l'existence de l'altération des globules rouges, spécialement par ce fait que les capillaires des divers organes, surtout du cerveau, se montrent pleins de globules rouges contenant des corpuscules, dans deux cas, presque tous de forme simple, ronds, petits, et n'ayant absolument pas de granules de pigment. Il faut encore noter ce fait que ces corpuscules ne sont pas libres, mais, au contraire, toujours retenus dans les globules rouges, et qu'ils ne semblent libres que lorsque les contours de ceux-ci sont détruits par l'action de l'alcool.

De ce que nous avons exposé jusqu'ici, il reste démontré à l'évidence que dans l'infection par malaria, il se produit dans les globules rouges une altération, qui peut être suivie dans toutes ses phases, et qui commence par la présence de granules et de corpuscules généralement sphériques, se colorant avec quelques couleurs d'aniline; elle continue par l'agrandissement de ces corpuscules, par leur fusion et par la formation de pigment noirâtre, en forme de granules et de mottes, et enfin elle se termine par la réduction du globule rouge en un corps pigmenté, d'aspect hyalin, qui se dissout ensuite, tandis que le pigment devenu libre vient se renfermer dans les cellules blanches, et de là se dépose dans quelques organes (rate, moelle osseuses foie).

(1) Consulter aussi à ce sujet les *Studi patologici e chimici sulla funzione ematopoetica.* Mémoire de G. Tizzoni et M. Fileti. — Actes de l'Académie Royale des Lincei, année 1880-81, vol. x. — Ces *Archives*, i.

(2) Virchow's Archiv, T. i, 39.

Maintenant quelle est la nature de cette altération des globules rouges?

Il est hors de doute que cette altération doit être regardée comme de nature régressive, ou plutôt, elle peut être définie avec Tommasi-Crudeli comme une nécrobiose du globule rouge, dans laquelle s'opère la transformation de l'hémoglobine en mélanine, et par laquelle il ne reste du globule qu'un cadavre circulant, et par conséquent incapable d'accomplir sa fonction essentiellement vitale. Ceci admis, on peut déjà établir par rapport à la question du siège de formation et de la genèse du pigment de la mélanémie: 1° *que le pigment se forme dans les vaisseaux sanguins, et dans le sang en circulation ;* 2° *qu'il procède de la substance colorante du globule rouge, et se forme précisément dans le protoplasme de ce globule.* La première conclusion est évidente, étant admis que le pigment se forme dans les globules rouges circulants, et elle est conforme à ce qu'avaient déjà établi Kelsch et Arstein. Il va de soi qu'on comprend la raison par laquelle on ne peut tenir compte de l'hypothèse que le pigment se forme du sang extravasé dans les hémorragies de la rate et des autres organes. La seconde conclusion n'est pas moins évidente, parce que pendant que le globule rouge se décolore, le pigment noir se dépose, et l'on peut suivre toutes les phases de cette décoloration et de cette pigmentation. Kelsch s'était déjà douté que beaucoup des formes pigmentées représentaient des globules rouges décolorés et pigmentés, mais il abandonna cette idée parce qu'il ne parvint pas à voir tous les degrés de la pigmentation, et il pensa que le pigment se formait librement dans le plasme du sang aux dépens de l'hémoglobine qui s'y dissout.

Or, qu'elle est la cause de cette nécrobiose des globules rouges?

Pour le moment, nous ne pouvons rien dire de précis, comme on ne peut rien dire sur la cause des dégénérations et des nécroses des autres organismes élémentaires, dans d'autres maladies d'infection. Dire que la malaria attaque les globules rouges et en détermine la destruction, c'est répéter ce que l'observation avait déjà fait penser. Baccelli (1) a dit en effet, depuis bien longtemps, que la malaria non seulement frappe le système ganglionaire, ce qui engendre les processus congestifs par paralysie vaso-motrice, mais encore s'attaque à l'existence des globules rouges, qui perdent leur activité fonctionnelle et se détruisent.

(1) *La Perniciosità.* Lezione clinica. — Archivio di medicina, chirurgia ed igiene. 1869.

Mais dans l'altération des globules rouges que nous avons décrite, il se manifeste quelques particularités dignes de fixer l'attention de l'observateur. Le commencement de l'altération est signalé par l'apparition, dans les globules rouges, de granules et de corpuscules généralement sphériques, qui se colorent fortement avec quelques couleurs d'aniline. Ces corpuscules seraient-ils des microrganismes qui envahissent les globules rouges et pénètrent dans leur protoplasme ? L'hypothèse serait des plus séduisantes, mais ces seuls caractères ne suffisent pas pour la faire accepter. Les granulations des *Mastzellen* de Ehrlich présentent des caractères analogues à des microcoques, et pourtant ce ne sont que des granulations du protoplasme.

Nous avons tenté de résoudre la question en essayant de cultiver le sang des malariques, pour voir si ces corpuscules se multiplieraient. Les premières tentatives n'ont pas reussi. Ainsi les cultures du sang faites dans la gélatine de Koch n'ont pas réussi, quoique les conditions du milieu aient été variées de plusieurs façons. En effet, dans les premières expériences, on tenait la température de l'étuve à la chaleur fébrile, mais ensuite, dans des expériences successives, même sur le conseil du prof. Filehne qui se trouvait à Rome pour d'autres études, on a maintenu cette température à la chaleur normale du corps humain, puis à une température graduellement plus basse jusqu'à 30° C. On a choisi, pour les cultures, les sangs où les globules rouges présentaient le commencement de l'altération, c'est-à-dire les plus petits corpuscules. Les autres conditions pour la bonne réussite d'une culture furent la plupart du temps si bien obtenus, qu'autour des gouttelettes du sang et dans d'autres parties il n'y avait pas le moindre développement de microrganisme. On n'a pas pu faire réussir non plus dans les mêmes conditions des cultures répétées, faites dans l'oxyhémoglobine, préparée selon les précepts de Hoppe Seyler, et qui nous était fournie par le prof. Rossoni. Apres l'insuccès de ces tentatives, nous en avons fait d'autres, basées sur l'opinion à nous personnelle qu'il fallait pour voir, en dehors de l'organisme, le développement de ces parasites supposés du globule rouge, leur donner un terrain de culture chimiquemeut analogue ou identique à celui du globule rouge. La nécessité d'employer des températures stérilisantes sans altérer en même temps l'hémoglobine, a été la cause de l'insuccès d'autres tentatives. Enfin, après de longs essais, nous avons réussi à préparer un terrain solide de culture, répondant suffisamment aux conditions voulues. Dans ce terrain on a mis une goutte de sang prise, avec toutes précautions,

du doigt d'un jeune homme au moment du frisson initial d'une fièvre intermittente ordinaire. La température de l'étuve était de 36°-36°,5. Or, dans les premiers jours, on ne remarqua aucun changement autour de la gouttelette de sang, mais le quatrième jour, on commença à voir une aire de couleur grisâtre qui, examinée avec la méthode employée pour le sang, se montrait formée de corpuscules ronds de différentes grandeurs, les plus grands décolorés au milieu, et semblables à des anneaux. Dans les terrains témoins, rien ne se révéla. Deux autres cultures ayant été faites dans le même terrain, et à la même température, ce terrain s'est desséché et s'est rapidement solidifié de manière à ne pas permettre de développement ultérieur. On aurait sans doute pu remédier à cet inconvénient imprévu, mais nous arrivions à la fin de la saison de la malaria, et nous n'avons pas pu trouver un bon sang pour en faire la culture, et d'un autre côté nous n'avons pas réussi dans la tentative qui nous fîmes, d'obtenir des cultures successives de l'aire desséchée de la première. Malgré l'apparente identité des formes vues dans les préparations de la culture, avec celles qui se trouvaient dans le sang dans certains cas, spécialement de pernicieuse, nous n'avos pas cru qu'on pût en tirer des conclusions. Nous avons seulement rapporté le fait; des études ultérieures en donneront la signification.

Dans l'état d'incertitude où nous nous trouvions quant à la nature de ces corpuscules, il va de soi qu'on ne puisse dire en aucun façon, si, par hasard, il existerait quelque rapport entre eux et les formes bacillaires décrites par diverses observateurs, dans le sang des malariques. A ce propos nous nous permettons une courte digression.

Après les études de Klebs et de Tommasi-Crudeli (1), l'un de nous (Marchiafava) et Cuboni ont décrit des formes bacillaires existant dans le sang des malariques, renflées à leur extrémité et même quelquefois au milieu, de différentes longueurs et douées de mouvements très vifs, serpentants et de translation. Plus tard, les mêmes formes ont été décrites par Marchand (2) et par Ziehl (3). Marchand a trouvé dans le sang d'un fiévreux des formes bacillaires avec les extrémités légèrement renflées, ayant à peu près la moitié de la longueur d'un globule rouge, et douées de mouvements vifs. Ziehl a trouvé dans le sang de trois fiévreux par

(1) Loc. cit.
(2) *Kurze Bemerkung zur Aetiologie der Malaria.* — Virch. Arch., 88.
(3) *Einige Beobachtungen über Bacillus Malariae.* — D. M. Woch., 48.

malaria de petites formes bacillaires renflées à l'extrémité et se mouvant lentement; mais il les a trouvées également dans le sang d'un diabétique qui n'avait pas de fièvre et chez lequel il suppose qu'il existait une infection malarique occulte. Dans ces quatre cas la quinine a fait disparaître ces formes. Néanmoins des observations ultérieures montrent que la nature parasitaire de ces formes n'est qu'apparente. Dans les observations faites cette année sur le sang frais, on a quelquefois trouvé ces formes, surtout les petites, décrites aussi par Marchand et par Ziehl, pourvues de renflements à l'extrémité, douées d'un mouvement très vif et passant au milieu des globules rouges: mais on n'a pas trouvé les formes longues 2, 3, 4 fois comme les globules rouges, avec des renflements à l'extrémité et au centre, ce qui fait penser que ces formes se produisaient après l'extraction du sang et à cause de la méthode avec laquelle on l'avait examiné. En effet, autrefois on recueillait le sang dans de petits tubes de verre, avec un renflement au milieu, on les fermait à la lampe, puis on les plaçait dans une position verticale pour faire l'examen du serum qui se fixait sur le caillot. Dans ce sérum on a trouvé les formes bacillaires longues et plus riches de renflements, et on s'est demandé si elles ne pourraient pas provenir de l'action calorique de la lampe sur les globules rouges. On sait, en effet, que la chaleur est un agent qui produit les altérations les plus diverses. Quelques-unes ont été complétement décrites, et se trouvent indiquées dans tous les livres d'histologie (Frey, Ranvier, etc.), dans lesquels on lit aussi que les fragments provenant de la rupture des globules rouges gardent la couleur de ceux-ci, et ne sont en proie qu'au mouvement brownien. Or, nous avons répété les observations sur le sang d'individus sains, en le recueillant dans les petis tubes indiqués et en le soumettant a une température de 42°-48°; et ainsi, outre des globules rouges, qui ont complétement perdu l'hémoglobine, et d'autres qui la présentent en parcelles dans leur extérieur, comme les gouttelettes de graisse dans le protoplasme des éléments cellulaires, on voit quelquefois des globules rouges, d'où partent des prolongements de différentes longueurs (2, 3, 4, 5 fois le diamètre des globules eux-mêmes), très réguliers, terminès par un renflement et qui sont en proie à des mouvements serpentants qui fouettent les globules rouges environnants. Après une longue observation on voit quelques-uns de ces filaments se rendre libres, et alors l'extrémité qui se détache se gonflant aussi, ils ne restent plus en repos, mais doués de mouvements vermiculaires et spirilliformes, ils passent au milieu des globules rouges immobiles et traversent rapidement le

champ microscopique. Des formes semblables se voient encore, bien qu'en moins grand nombre, sans l'action de la chaleur, par exemple, dans le sérum qui se fixe sur le caillot, surtout si le sang est celui d'un fiévreux, comme dans le sang recueilli directement sur le couvre-objets. Il est toutefois raisonnable de penser, comme l'a déjà dit Tommasi-Crudeli (1), que beaucoup des formes décrites dans le sang des malariques sont dues à ces filaments qui sortent des globules rouges, et qui se disposent de façon à s'imposer à l'observateur comme des formes bacillaires. Il nous reste à étudier mieux les petites formes décrites aussi par Marchand et par Ziehl, que l'on n'a pas réussi jusqu'à présent à colorer, et dont on n'a pu faire encore de préparations à conserver.

Les filaments mobiles décrits par Laveran et Richard, et qui représentent, selon le premier, le parasite à l'état parfait, ont les mêmes caractères que ceux qui viennent d'être décrits, et se produisent de la même manière. Nous avons vu dans le sang frais que quand la dégénération du globule rouge est presque complète et qu'il ne reste plus du protoplasme normal qu'une mince zône, il en sort quelquefois des filaments très mobiles qui se rendent libres après un temps plus ou moins long. Ces filaments ne se sont jamais colorés avec les couleurs d'aniline, dont nous nous sommes servis, et quelque attentif qu'ait été l'examen, nous ne sommes jamais arrivés à voir des prolongements colorés dans les globules rouges dégénérés et pigmentés. Les formes semilunaires de Laveran viennent de ce qu'il n'y a qu'une partie de globule rouge qui se convertisse en un corps semilunaire pigmenté, tandis que l'autre partie se décolore, et qu'il n'en reste que la mince contour qu'en ne réussit que rarement à voir dans les préparations colorées et renfermées dans le baume.

Maintenant, laissant de côté cette digression sur ces formes de pseudo-microrganismes, venons-en à la dernière partie des observations et des recherches que nous avons faites cette année.

Nous avons vu comment en certains cas, à l'occasion de l'altération décrite, une quantité énorme de globules rouges meurent et se détruisent. Maintenant nous devons ajouter que dans le sang des mêmes malades, où se produit une si grande destruction de cellules rouges, on trouve des *globules rouges à noyau, des globules rouges plus volumineux (macrocytes) et des globules rouges qui se colorent autrement que ceux ordinaires.*

(1) Loc. cit.

Parmi les cas où il nous à été donné d'observer ce fait, citons le suivant :

C. L., de Rome, âgé de 19 ans, charretier, est entré à l'hôpital le 10 septembre. Il n'avait jamais auparavant souffert des fièvres de malaria. Du 1er au 8 septembre il avait eu des accès de fièvre à type quotidien. Depuis le 8, selon ses assertions, la fièvre ne l'avait plus quitté. A la visite du malade, quelques heures après son entrée à l'hôpital, on lui trouve une fièvre très haute (40°) la peau d'un jaune terreux, la rate tuméfiée et douloureuse à la palpation, le sensorium obtus. L'examen du sang présenta de nombreux globules rouges altérés de la manière décrite, des globules blancs pigmentés. On fit une injection de bisulfate de quinine. Le 11, au matin, la fièvre était à 38°,5, le soir à 40°. Nouvelle injection de bisulfate. L'examen du sang donne le même résultat. La forme subcontinue a duré jusqu'au 15 ; dans la soirée de ce jour, la température était à 37°,7. L'examen du sang présentait toujours les altérations connues des globules rouges, si ce n'est que, depuis le 13, on commença à trouver dans le sang des *globules rouges à noyau, des globules rouges très volumineux*, ayant quelquefois un diamètre presque double de celui des globules rouges normaux ; le nombre des globules blancs et des petites plaques était évidemment augmenté. A partir du 15 l'amélioration s'est montrée constante, sauf de légères augmentations de température dans les heures de la soirée, qui se produisirent jusqu'au 21. On continua l'examen du sang jusqu'au 28, jour auquel le malade, guéri, a quitté l'hôpital, et tandis que le nombre des globules rouges altérés et pigmentés allait en diminuant, ainsi que les cellules blanches pigmentées, on voyait croître celui des globules rouges à noyau et des macrocytes, qui, à leur tour diminuèrent aussi eux-mêmes, jusqu'à ce que, dans la soirée du 27, il ne s'en trouva plus qu'un petit nombre. Toutefois la convalescence fut assez courte, l'appétit revint promptement et vorace, les forces, qui avaient diminué, revinrent également vite.

Les globules rouges à noyau et les macrocytes trouvés dans divers cas d'infection malarique aiguë, pendant la maladie et pendant la convalescence, se reconnaissent dans les preparations fraîches et dans les préparations desséchées et colorées. Dans celles qui sont colorées avec le bleu de méthylène, les globules rouges à noyau présentent le protoplasme d'une couleur bleu verdâtre ; le contour et les corpuscules du noyau d'un bleu foncé. Leur forme est variée, leur protoplasme est tantôt abondant, tantôt rare, tantôt très rare, quelquefois existant d'un seul coté de noyau, et le contournant d'une mince zône. Généralement ils contiennent un noyau unique et gros, mais quelquefois ils en ont deux, ou un en voie de scission ou bourgeonnant et quelquefois *sortant du protoplasma*. Les macrocytes, qui dans les préparations fraîches se présentent très pâles, se colorent, avec le bleu de méthylène, en bleu verdâtre moins intense que celui du protoplasme des globules rouges à noyau. Les petites plaques se colorent légèrement en bleu, et se pré-

sentent ou seules ou par groupes, presque toujours avec des contours très nets. Mais dans les préparations desséchées et colorées, outre les globules rouges à noyau et les macrocytes, on reconnaît des globules rouges du volume normal, qui toutefois, à la différence des globules ordinaires, prennent avec le bleu de méthylène une coloration identique à celles des macrocytes.

Or, quelle est la signification de la présence de tous ces éléments, et principalement des globules rouges à noyau ?

On sait que les globules rouges à noyau ne se trouvent pas normalement dans le sang en circulation dans la vie extra-utérine, sauf dans le premiers jours après la naissance, mais ils se trouvent assez fréquemment dans les anémies graves essentielles et simptomatiques, en nombre plus ou moins grand, tandis qu'ils sont très abondants dans la moelle osseuse, et quelquefois aussi dans la rate (1). Ehrlich (2) en desséchant et en colorant les préparations de sang, a montré la méthode de les trouver plus facilement. Cependant jusqu'ici ils n'ont pas été décrit dans les maladies aiguës d'infection. Leur présence dans l'infection malarique aiguë, aussi bien dans les derniers temps de la maladie que pendant la convalescence, est, sans doute, en rapport avec la destruction directe d'un nombre plus ou moins grand des globules rouges, et c'est un indice certain que la fonction des organes hémopoétiques est devenue plus énergique pour que la régénération de ces organismes élémentaires détruits en si grand nombre, s'accomplisse plus rapidement et en raison du besoin (3). Quant aux *macrocytes* et aux globules rouges qui se colorent autrement que ceux ordinaires, il représentent évidemment de jeunes globules rouges, qui ont depuis peu perdu leur noyau,

---

(1) Dans un cas d'anémie très grave par sténose pylorique, observé par l'un de nous (Marchiafava), chez une jeune fille, il se trouvait dans le sang de nombreux globules rouges à noyau (dans chaque préparation 10-12). Après la mort il s'en est trouvé un nombre énorme dans la moelle osseuse et un nombre remarquable dans la pulpe splénique.

(2) Berl. Klin. Woch., 1881, n. 3.

(3) Mr. le prof. Eugène Rossoni a eu l'obligeance de nous dire que plusieurs fois il avait constaté par l'*analyse spectrale photométrique de Vierordt,* la diminution de la quantité de l'hémoglobine dans le sang des fiévreux par malaria, en rapport approximatif avec la quantité de globules rouges altérés ; comme aussi, qu'il avait noté l'augmentation graduelle journalière de la quantité de l'hémoglobine, chez les convalescents de grave infection malarique et dans le sang desquels se trouvaient de nombreux globules à noyau.

et cela est d'accord avec ce qu'ont déjà vu Bizzozero et Salvioli (1), dans le sang des animaux rendus anémiques par des saignées répétées dans le but d'étudier l'hématopoése splénique.

Si la destruction des globules rouges se fait expérimentalement dans les animaux (chiens) au moyen l'injection sous-cutanée d'acide pyrogallique (Neisser, Afanassiew, etc.), au bout de très peu de temps on trouve dans le sang en circulation des globules rouges à noyau, des globules rouges de volume supérieur au volume normal, et des globules rouges qui se colorent autrement que les globules ordinaires; tous élement qui se retrouvent plus abondants dans la rate et la moelle osseuse après la mort de l'animal.

Ces résultantes expérimentales sont en harmonie avec ce que l'on observe dans le sang des mélanémiques.

De plus, il est rationnel d'admettre que le passage des globules rouges à noyau dans le sang en circulation, se fait parce que la formation des globules rouges dans les organes hémopoétiques est si active, si tumultueuse, que les globules rouges en voie de formation s'échappent dans la circulation générale, avant qu'ils n'aient en quelque sorte perdu leur noyau.

Quoique nos recherches n'aient pas complétement atteint le but dans lequel elles ont été faites, nous croyons cependant qu'elles ont aidé a faire mieux connaître les altérations que la malaria produit dans les globules rouges, et à éclaircir la génèse de la mélanémie. Il reste toutefois toujours à déterminer la nature de l'agent spécifique auquel sont dues ces altérations, et c'est vers ce but que seront dirigées d'autres recherches.

Enfin, il est facile de juger s'il ressort quelque chose d'utile pour la clinique de l'étude de ces altérations des globules rouges. On a déjà dit qu'elles ne se trouvent pas toujours et qu'elles peuvent manquer dans les formes légères de l'infection comme dans les formes graves admises cliniquement pour malariques. Donc, leur absence ne fait pas exclure l'infection par malaria, leur présence la fait admettre indiscutablement, et cela aussi parce qu'il ne nous a pas été donné de les trouver dans aucune des autres maladies d'infection (fièvre typhoïde, méningite cerébro-spinale, rougeole, pulmonite, etc.), dans lesquelles jusqu'à présent nous avons pu examiner le sang.

(1) *Ricerche sperimentali sulla ematopoesi splenica.* — Archivio di Bizzozero, vol IV, n. 2.

Explication des Figures

Fig. A. Globules rouges aux divers degrés de l'altération. De 1 à 32, globules rouges contenant de corpuscules et des masses pigmentées de grandeur et de forme différentes. De 33 à 36, globules rouges au dernier degré de l'altération, convertis en corps sans hémoglobine, contenant des granules et des masses de pigment. De 37 à 42 corps pigmentés provenant de la destruction des précédents.

Fig. B. *a*) Globule rouge normal; *b*) globule blanc pigmenté.

Fig. C. Globules rouges après l'action de l'eau distillée; *a*) globule rouge contenant des corpuscules, dont quelques-uns pigmentées; *bb' b''* globules rouges normaux.

Fig. D. Sang dans un cas de *f. pernicieuse comateuse;* globules rouges contenant 1 ou 2 corpuscules sans pigment; globule blanc pigmenté.

Fig. E. Sang dans un cas de *f. pernicieuse comateuse;* globules rouges contenant des corpuscules avec vide au milieu, conformés en façon d'anneaux, et quelques-uns contenant des granules de pigment; globule blanc pigmenté.

Fig. F. Globules rouges à noyau.

Fig. G. Sang d'un convalescent de *f. subcontinue;* globules rouges à noyau, globules rouges jeunes, globules rouges ordinaires, nombreuses petites plaques.

Toutes les préparations des figures précedentes ont été obtenues par le dessèchement et la coloration successive par le bleu de méthylène.

Ob. $\frac{1}{12}$ Zeiss. (immersion homogène); oc. Hartnack 3, tube tiré (appareil de Abbe).

Fig. H. Substance grise corticale du cerveau dans un cas de *f. pernicieuse comateuse;* tous les capillaires sont pleines de globules rouges contenant des corpuscules. Hartnack, ob. 7, oc. 3, tube élevé.

Fig. L. Même préparation. Ob. Zeiss. $\frac{1}{12}$; oc. Hartnack 4, tube élevé (appareil de Abbe).

Fig. M. Substance grise corticale du cerveau dans un autre cas de *f. pernicieuse comateuse;* les capillaires sont pleins de globules rouges contenant des corpuscules pigmentés. Hartnack ob. 7, oc. 3, tube tiré.

Fig. N. Même préparation dans laquelle on voit distinctement que les corpuscules pigmentés se trouvent dans les globules rouges. Ob. $\frac{1}{12}$; oc Hartnack 4, tube tiré (appareil de Abbe).

Les préparations de ces quatre dernières figures ont été colorées avec le bleu de méthylène.

Turin, Impr. Camilla et Bertolero.

Fig. A



Fig. B



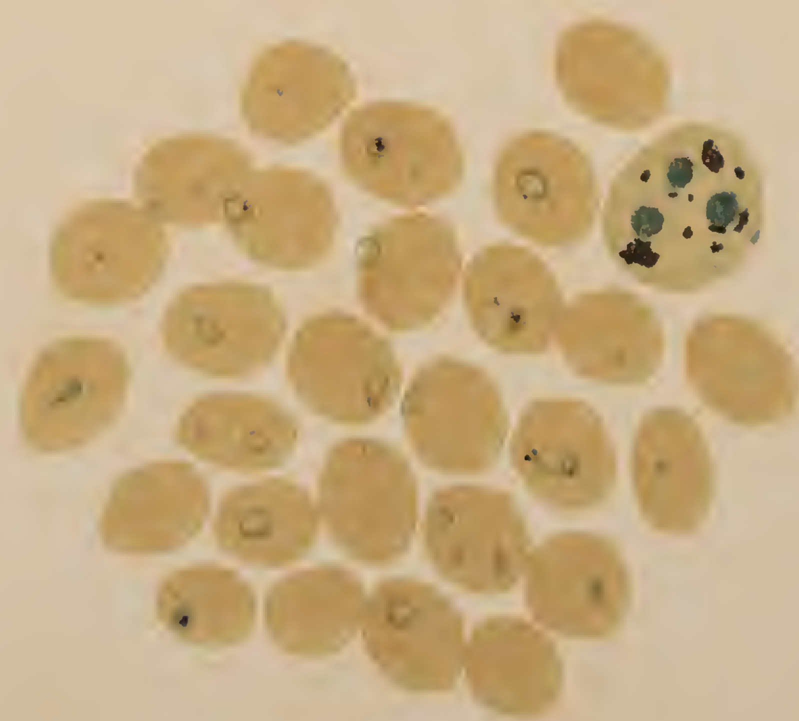
Fig. C



Fig. D



Fig. E



Lit. Bruno e Salomone, Roma.